

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication : **2 760 746**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②① N° d'enregistrement national : **97 03135**

⑤① Int Cl⁶ : C 07 C 233/47, A 61 K 7/38, A 01 N 37/44

①② **DEMANDE DE BREVET D'INVENTION**

A1

②② Date de dépôt : 14.03.97.

③① Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 18.09.98 Bulletin 98/38.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Ce dernier n'a pas été
établi à la date de publication de la demande.*

⑥① Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : LABORATOIRES PHYTOCOS
SOCIETE A RESPONSABILITE LIMITEE — FR.

⑦② Inventeur(s) : DIOT DOMINIQUE.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) :

⑤④ **NOUVEAUX ACYLAMINOACIDES.**

⑤⑦ L'invention concerne de nouveaux acylaminoacides
obtenus par l'acylation d'hydrolysats partiels ou totaux de
protéines contenus dans la graine de CHENOPODIUM
QUINOA (CHENOPODIACEAE).

L'invention concerne également différentes composi-
tions contenant lesdits acylaminoacides, dont l'usage est
destiné aux domaines cosmétique, hygiénique, thérapeuti-
que et en agriculture.

FR 2 760 746 - A1



NOUVEAUX ACYLAMINOACIDES

5 L'acylation d'une chaîne grasse sur des acides aminés ou sur des peptides à chaîne courte ou moyenne, obtenus par hydrolyse de protéines animales ou végétales a fait l'objet de nombreux brevets portant tant sur leur préparation que leur destination d'emploi, et en particulier dans les domaines cosmétiques, pharmaceutiques et de l'agriculture.

L'étude de la technique d'acylation peut être illustrée par les publications Chemical Abstract Volume 101, 1984, 59982d et Volume 102, 1985, 115009b, ainsi que par de nombreux brevets.

10 La présente invention a pour objet de réaliser de nouvelles structures acylaminoacides faiblement odorantes et peu colorées obtenues à partir d'hydrolysats partiel ou total des protéines contenues dans les graines de CHENOPODIUM QUINOA (CHENOPODIACEAE).

15 L'hydrolyse totale de ces structures polypeptidiques mène à la libération des acides aminés qui les composent, avec deux acides aminés particulièrement dominants, l'acide glutamique dont la teneur moyenne se situe entre 20 et 25 % et l'acide aspartique qui représente entre 12 et 15%.

20 Les 7 acides aminés cités ci-après représentent au total environ 50% des chaînes polypeptidiques.

Ce sont:

25 la glycine entre 8 et 10 %,
l'arginine et la lysine entre 6 et 8 % chacun,
l'alanine, la sérine et la leucine entre 5 et 7 % chacun,
la proline entre 4 et 6 %.

Les 7 acides aminés cités ci-après représentent au total entre 15 et 20 % des chaînes polypeptidiques.

Ce sont:

30 la thréonine entre 3,8 et 4,5 %,
la valine entre 3 et 4 %,
l'histidine et l'isoleucine entre 2 et 3 % chacun,
l'isoleucine entre 2 et 3 %.
la méthionine entre 1,8 et 2,5 %
la phénylalanine entre 1 et 1,5 % la tyrosine entre 0,6 et 1 %

35 De par la méthode d'hydrolyse utilisée, on a pu noter l'absence ou des traces de cystine et de tryptophane.

Il est intéressant de constater que la composition de l'hydrolysats total de protéines de graines de CHENOPODIUM QUINOA est voisine de celle de l'hydrolysats total de protéines de soja (GLYCINE MAX).

40 Le faible volume occupé par les graines de CHENOPODIUM QUINOA permet d'effectuer l'hydrolyse partielle ou totale directement.
Pour cela trois parties (en poids) de graines sont plongées dans une solution contenant trois parties d'acide chlorhydrique à 33 % et une partie d'eau.

45 L'ensemble est chauffé à une température suffisante pour obtenir un reflux, jusqu'à l'obtention d'une solution ayant une réaction biurétique négative (5 heures de chauffage à reflux environ).

L'hydrolysats obtenu est neutralisé par une solution de soude à 30 % jusqu'à pH 5 environ, puis traité par un charbon actif pour la décoloration.

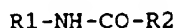
- 5 Afin de pouvoir déterminer la quantité de chlorure ou d'anhydride d'acides gras ou organiques nécessaires à l'acylation, on effectue le titrage de l'hydrolysats par formol titration.

10 Pour les cas d'utilisation de chaînes grasses à partir de 5 carbones, on effectue l'acylation en versant l'agent acylant dans l'hydrolysats, à des températures comprises entre 15 et 50°C, selon la nature de l'agent acylant, et en maintenant le pH du milieu entre 10 et 11. Lorsque tout le réactif d'acylation est introduit, on porte la température du milieu réactionnel à 70°C pendant une heure dans le cas d'utilisation de chlorures d'acides gras. On refroidit ensuite le milieu pour arriver à une température inférieure à 30°C, puis on traite à l'acide chlorhydrique à 33 % pour arriver à un pH voisin de 1. Il se forme alors une masse blanche, volumineuse, comportant environ 70 % d'eau.

15 Lavée sur filtre pour éliminer l'acide chlorhydrique, cette masse sera déshydratée sous vide, à une température inférieure à 50°C pour éviter l'apparition d'une coloration. On obtient des acylaminoacides liposolubles, qui selon la nature de la chaîne grasse utilisée, seront pâteux ou pourront être réduits en poudre.

25 Lorsque la chaîne acyle utilisée comporte de 1 à 4 atomes de carbone (acétyle, propionyl, butyryl), et après avoir amené le pH du milieu vers 1 - 1,5 puis éliminé l'acide chlorhydrique issu de la réaction et l'eau par distillation sous vide, l'acylaminoacide hydrosoluble obtenu peut être extrait par un solvant approprié comme l'éthanol par exemple.

30 Les acylaminoacides réalisés selon l'invention, sont des mélanges d'acidoacides acylés ayant la structure suivante:



35 dans lesquelles R1 représente la structure de l'acide aminé où la fonction amine est fixée, et R2 représente un radical d'acides gras de C5 à C30 ou d'un acide organique de C1 à C4.

On obtient ainsi un mélange d'acylaminoacides, aisément révélables en chromatographie sur couche mince, et correspondant précisément à la composition de l'hydrolysats de graines de CHENOPodium QUINOA.

EXEMPLES DE PREPARATION D'ACYLAMINOACIDES SELON L'INVENTION:

40 EXEMPLE N° 1 - Hydrolyse des graines de CHENOPodium QUINOA:

Dans un réacteur contenant 300 ml d'acide chlorhydrique à 33 % et 100 ml d'eau, on introduit 300 g de graines de CHENOPodium QUINOA. On porte la température jusqu'à l'ébullition (vers 100°C) pendant environ 5 heures.

45 Après refroidissement, on amène à l'aide d'une solution de soude l'hydrolysats obtenu à pH 5, et on filtre pour éliminer les éléments hydrocarbonés restants des graines. Avec du charbon actif, on effectue la décoloration de l'hydrolysats, soit à température ambiante, soit à

chaud vers 80°C.

On détermine le titre de l'hydrolysate par formol titration ce qui permet de calculer la quantité d'agent acylant à utiliser par rapport au contenu de fonctions NH₂ des acides aminés libérés par l'hydrolyse.

EXEMPLE N° 2 - Acylation par le chlorure de palmitoyl:

A température ambiante, à 200 ml d'hydrolysate obtenu selon l'exemple 1 on ajoute sous agitation 400 ml d'eau et de la soude, pour porter le pH vers 10,5. On fait couler goutte à goutte le chlorure de palmitoyl en maintenant le pH entre 10,5 et 11 avec de la soude. La température du milieu monte vers 40°C. Lorsque tout le chlorure de palmitoyl a été introduit, on porte la température du milieu à 70°C pendant une heure.

Après refroidissement, on ajoute une solution d'acide chlorhydrique pour arriver à pH 1. Le mélange d'acylaminoacides décante sous la forme d'une matée blanchâtre qu'on lavera à l'eau froide. Déshydratée sous vide à une température inférieure à 50°C pour éviter des colorations, on obtient un produit fondant vers 60 - 65°C.

EXEMPLE N° 3 - Acylation par le chlorure de capryloyl:

Dans les mêmes conditions que dans l'exemple 2, à 200 ml d'hydrolysate obtenu suivant l'exemple 1, on ajoute selon le même mode opératoire le chlorure de capryloyl. Après acylation et chauffage à 70°C pendant une heure, on refroidit le milieu et on libère avec de l'acide chlorhydrique le dérivé obtenu. Le produit obtenu est liquide et de couleur brun rougeâtre.

Après décantations et lavages successifs avec de l'eau pour éliminer l'acide chlorhydrique restant, on le déshydrate sous vide.

L'invention concerne également des compositions diverses préparées avec les acylaminoacides de l'invention, lesquelles pouvant être utilisées dans les domaines cosmétique, hygiénique, thérapeutique et en agriculture.

Ces nouveaux acylaminoacides peuvent être utilisés tels quels, c'est à dire sous leur forme acylée, ou sous la forme de leurs sels respectifs avec des alcalino-métaux ou des bases organiques, tels que les différentes amines, l'ammoniaque ou les alcools aminés, ou des bases biologiques comme la choline, la lysine.

Les métaux alcalino-terreux peuvent également être utilisés, tout comme les métaux comme le fer, le manganèse, le cobalt, le cuivre, et en général les oligoéléments.

Du choix de l'agent utilisé pour la formation de sels dépendra l'usage auquel le composé obtenu est destiné.

Par exemple, pour la réalisation de compositions antimicrobiennes, antifongiques et antivirales, on utilisera des agents acylants en C8 ou C11.

Pour la réalisation de compositions détergentes, on préférera la salification par une base minérale, organique ou biologique de l'acylaminoacide dont la fraction acyle correspond à la chaîne laurique. Le produit obtenu ainsi est principalement destiné à

l'hygiène corporelle et se caractérise, à la teneur de 20 %, par un pouvoir moussant et une douceur exceptionnelle caractéristique. Comme base minérale, on pourra utiliser la soude ou la potasse, comme base organique la monoéthanolamine ou la triéthanolamine, et comme base biologique la choline, la lysine ou l'ammoniaque.

5 Des compositions antisudorales actives sur l'hyperhydrose pourront être réalisées avec des sels d'aluminium mono et dibasiques et des agents acylants en C8 ou C11.

10 La présence de sérine en quantité assez importante (5 à 7 %) donne aux acylaminoacides ainsi réalisés des caractéristiques antidéshydratantes et antitoxiques particulièrement intéressantes dans le domaine cosmétique, en particulier lorsque la fraction acyle utilisée est la chaîne palmitoyl (A. KAPLAN: "Hydrogene bonding properties of N-Palmitoyl_Serine" - Journal of Colloid and interface

15 Science, 1967 (25), 63-70) ; MAC FARLANE: Adv Lipid Res. 1964(2), 96-125).

Dans le domaine de l'hygiène, on pourra greffer des chaînes acyles comportant de 3 à 11 atomes de carbone, et les formes salifiées seront utilisables.

20 En agriculture, les acylaminoacides en C8 à C22, salifiés par des oligoéléments (dont le cuivre en particulier), pourront être utilisés comme agents de protection ou de stimulation de la croissance des végétaux.

25 En pharmacie, des compositions antiinflammatoires en C8 à C22 pourront être réalisées pour lutter contre les inflammations microbiennes, fongiques ou virales de la peau.

Diverses compositions réalisées selon l'invention peuvent être citées à titre d'exemples non limitatifs:

1°) - Produit cosmétique du type shampooing:

30	Lauroyl Chenopodium Quinoa aminoacides (20% M.A.) ...	25,0
	Octanoyl Chenopodium Quinoa aminoacides	0,5
	Chlorure de sodium	4,0
	Eau déminéralisée	qs 100

2°) - Produit cosmétique du type crème:

35	DEA-cétylphosphate	3,5
	Acide stéarique	1,5
	Palmitate d'isopropyle	5,0
	Alcool cétylique	1,0
	Palmitoyl Chenopodium Quinoa aminoacides	5,0
40	Glycérine	7,0
	Octanoyl Chenopodium Quinoa aminoacides	0,5
	Lanoline	3,5
	Gel d'acides carboxyvinyles	4,0
	Eau déminéralisée	qs 100

45 3°) - Savon pour la toilette:

	Base savon sur coprah	94,0
	Lauroyl Chenopodium Quinoa aminoacides	4,0
	Palmitoyl Chenopodium Quinoa aminoacides	1,0

	Octanoyl Chenopodium Quinoa aminoacides	1,0
	<u>4°) - Composition antiseptique contre l'acné:</u>	
	Octanoyl Chenopodium Quinoa aminoacides	5,0
	Huile de ricin polyéthoxylée	25,0
5	Eau déminéralisée	qs 100
	<u>5°) - Composition pour lutter contre l'hyperhydrose:</u>	
	Octanoyl Chenopodium Quinoa aminoacides	3,0
	Palmitoyl Chenopodium Quinoa aminoacides	1,0
	Ethanol à 35 % v/v	96,0
10	<u>6°) - Composition antiperspirante:</u>	
	Undécylénol Chenopodium Quinoa aminoacides	5,0
	(salifié par l'aluminium forme dibasique)	
	Glycérol palmitostéarate	7,0
	Stéarate de polyoxyéthylèneglycol	4,0
15	Propylèneglycol	12,0
	Eau déminéralisée	qs 100
	<u>7°) - Produit protecteur des végétaux:</u>	
	Octanoyl Chenopodium Quinoa aminoacides	3,0
	(salifié par du cuivre)	
20	Palmitoyl Chenopodium Quinoa aminoacides	1,0
	Solution d'ammoniaque à 30 %	6,0
	Eau déminéralisée	qs 100

REVENDEICATIONS

- 1° - Acylaminoacides résultant de l'acylation par un radical acyle comportant de 1 à 30 atomes de carbone, d'un mélange d'acides aminés ou de peptides obtenus par hydrolyse partielle ou totale des protéines contenues dans les graines de CHENOPODIUM QUINOA (CHENOPODIACEAE).
- 2° - Acylaminoacides selon la revendication 1, caractérisés en ce qu'ils sont salifiés par les bases minérales comme la soude ou la potasse, les bases organiques comme les amines ou les bases biologiques comme la choline ou la lysine.
- 3° - Acylaminoacides selon la revendication 1, caractérisés en ce qu'ils sont salifiés par des métaux dits oligoéléments, par des alcalino terreux ou encore par l'aluminium.
- 4° - Compositions cosmétiques caractérisées en ce qu'elles contiennent des acylaminoacides selon l'une des revendications 1 à 3.
- 5° - Compositions détergentes à usage corporel contenant des acylaminoacides selon la revendication 1, caractérisées en ce que l'agent acylant est la chaîne laurique C12.
- 6° - Compositions antisudorales contenant des acylaminoacides selon la revendication 3, où la salification est effectuée avec l'aluminium sous forme monobasique ou dibasique.
- 7° - Compositions antimicrobiennes et antifongiques contenant des acylaminoacides selon la revendication 1, caractérisés en ce que l'agent acylant est la chaîne octanoyle ou undécylénoyle.
- 8° - Compositions hygiéniques contenant des acylaminoacides selon la revendication 1, caractérisés en ce que l'agent acylant comprend de 3 à 11 atomes de carbone.
- 9° - Compositions médicamenteuses pour le traitement des inflammations cutanées, contenant des acylaminoacides selon la revendication 1, caractérisés en ce que l'agent acylant comprend de 8 à 22 atomes de carbone.
- 10° - Compositions pour l'agriculture contenant des acylaminoacides salifiés par des oligoéléments selon la revendication 3, destinées à la stimulation du développement des végétaux et à leur protection, caractérisés en ce que l'agent acylant comprend de 8 à 22 atomes de carbone.

NEW ACYLATED AMINOACIDS

Acylation with fatty acid chains of amino acids or small to medium peptides obtained by hydrolysis of animal or vegetable proteins has been the subject of multiple patents relating to either their preparation or their use, in particular in the cosmetic, pharmaceutical and agricultural areas.

Studies of the acylation technique may be illustrated by publications such as Chemical Abstract Volume 101, 1984, 59982d and Volume 102, 1985, 115009b, and also by numerous patents.

The object of the present invention is to provide new acylated aminoacid structures that are slightly fragrant and slightly colored, obtained by partial to total hydrolysis of the proteins contained in CHENOPODIUM QUINOA (CHENOPODIACEAE) seeds.

The total hydrolysis of these polypeptide structures leads to the release of the amino acids of which they are composed, with two amino acids being particularly dominant, glutamic acid with an average content of 20 to 25% and aspartic acid which represents between 12 to 15%.

The following 7 amino acids represent a total of approximately 50% of the polypeptide chains.

They are:

glycine between 8 to 10%,
arginine and lysine between 6 to 8% each,
alanine, serine and leucine between 5 to 7% each
proline between 4 to 6 %.

The following 7 amino acids represent a total of 15 to 20% of the polypeptide chains.

They are:

threonine between 3.8 to 4.5%,
valine between 3 to 4%,
histidine and isoleucine between 2 to 3% each,
methionine between 1.8 to 2.5%,
phenylalanine between 1 to 1.5%
tyrosine between 0.6 to 1%.

With the hydrolysis method used, the absence or traces of cysteine and tryptophan was notable.

It is interesting to note that the composition of the total protein hydrolysate from CHENOPODIUM QUINOA seeds is similar to the total protein hydrolysate from soy (GLYCINE MAX).

The choice of the agent used for salt formation will depend on the intended use of the product.

For example, for the preparation of antimicrobial, antifungal, and antiviral products, a C8 or C11 acylating agent will be used.

For the preparation of detergent products, mineral, organic or biologic base salts of acylated aminoacids in which the acyl portion is a lauryl chain are preferred. The resultant product is mainly intended for personal hygiene and is characterized by a 20% content, by a foaming ability and an exceptional softness. As a mineral base, caustic soda or potash can be used, as an organic base monoethanolamine or triethanolamine and as a biologic base choline, lysine or ammonia.

Antisudorific compositions active against hyperhidrosis can be obtained with mono and dibasic aluminum salts and with C8 or C11 acylating agents.

The presence of serine in a relatively significant quantity (5 to 7%) imparts on the acylated aminoacids antidehydrating and antitoxic characteristics that are particularly interesting in the cosmetic field, in particular when a palmitoyl chain is present as the acyl portion (A. KAPLAN: "Hydrogen bonding properties of N-Palmitoyl_Serine" - Journal of Colloid and interface Science, 1967 (25), 63-70); MACFARLANE: Adv Lipid Res. 1964(2), 96-125).

In the hygiene field, acyl chains containing 3 to 11 carbons can be employed, and the salt forms will be useful.

In agriculture, C8 & C22 acylaminoacids salified with oligoelements (copper in particular) may be used as protection agents or to stimulate plant growth.

In pharmacy, anti-inflammatory compositions may be obtained containing C8 to C22 for fighting microbiological, fungal or viral inflammation of the skin.

Various compositions were prepared in accordance with the invention and can be cited as non-limiting examples:

1) - Cosmetic product, Shampoo:

Lauroyl Chenopodium Quinoa aminoacids (20% M.A.)	25.0
Octanoyl Chenopodium Quinoa aminoacids	0.5
Sodium Chloride	4.0
Demineralized water	qs 100

2) - Cosmetic product, Cream:

DEA-cetylphosphate.....	3.5
Stearic acid.....	1.5
Isopropyl palmitate.....	5.0
Cetyl alcohol.....	1.0
Palmitoyl Chenopodium Quinoa aminoacids.....	5.0
Glycerin.....	7.0
Octanoyl Chenopodium Quinoa aminoacids.....	0.5
Lanolin.....	3.5
Carboxyvinyllic acid gel.....	4.0
Demineralized water.....	qs 100